

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# RENDICONTI

---

CECILIA COCUCCI

## Attività ipocolesterolemizzante di un principio estratto dalla mucosa di cistifella

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 32 (1962), n.5, p.  
716–719.*

Accademia Nazionale dei Lincei

[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1962\\_8\\_32\\_5\\_716\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1962_8_32_5_716_0)

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

---

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma  
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)  
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

**Enzimologia.** — *Attività ipocolesterolemizzante di un principio estratto dalla mucosa di cistifella*<sup>(\*)</sup>. Nota di M. CECILIA COCUCCI, presentata<sup>(\*\*)</sup> dal Corrisp. C. ARNAUDI.

Fin dal 1941 Rosenheim O. [1], studiando *in vivo* la trasformazione del colesterolo in coprosterolo, stabilì che tale riduzione avveniva per mezzo dei batteri intestinali e che affinché tale riduzione si effettuasse, era indispensabile la presenza di un fattore contenuto nel cervello ed in altri organi.

Successivi studi mirarono alla ricerca ed alla identificazione di tale fattore parallelamente al progredire delle ricerche riguardanti l'isolamento e l'identificazione delle specie batteriche responsabili della riduzione.

Successivamente O. Rosenheim affermò nel 1941 che tale fattore è un galattoside, ma rese noto contemporaneamente che preparazioni pure del galattoside frenosina dimostravano *in vivo* un grado di attività molto minore di un estratto grezzo di cervello.

Che tale fattore non è certamente un cerebroside fu avanzato da H. Dam [3-4], che ottenne *in vivo* idrogenazione del colesterolo senza ingestione di cerebrosidi e successivamente da R. Rosenfeld ed altri [5], da I. Prange e H. Dam [6] che ottennero *in vitro* la riduzione del colesterolo in coprosterolo per mezzo di un estratto di feci di cane in terreni culturali molto complessi ma senza cerebrosidi.

L'aggiunta di polvere di cervello privo di steroli fu suggerita successivamente come un mezzo per diminuire l'assorbimento intestinale del colesterolo e quindi come mezzo ipocolesterolemizzante, dato che il coprosterolo non viene riassorbito dalla parete intestinale [7-8].

D'altronde che l'epitelio della cistifellea contenga un fattore ipocolesterolemizzante a livello ematico è stato dimostrato da parecchi ricercatori [9-10-11-12-13-14-15], pur senza che alcuno si sia interessato della trasformazione o del catabolismo che il colesterolo subisce.

Il che indusse C. Arnaudi e S. Carini [16] ad impiegare con esito positivo cistifellee suine in toto (fresche o liofilizzate), come base di un terreno culturale semi-sintetico per la riduzione *in vitro* del colesterolo a coprosterolo.

Sulla natura biologica e chimica di tale fattore precedentemente O. Priam aveva parlato di una sostanza ternaria di natura ormonale, E. Marchetti

(\*) Lavoro eseguito presso il Centro di studio per trasformazioni microbiche di idrocarburi, steroidi e derivati del Consiglio Nazionale delle Ricerche aggregato all'Istituto di Microbiologia Agraria e Tecnica dell'Università di Milano.

(\*\*) Nella seduta del 12 maggio 1962.

ed altri di una proteina con potere di attivatore della lipasi pancreatica, W. Ried escluse l'esistenza di un attivatore lipolitico, Cocucci-Rizzi parlò di una sostanza non identificata attiva sul tasso di colesterolo ematico ma non attivante la lipasi.

Partendo dai sopra citati dati sperimentali, realizzando dal 1959 una serie di esperienze, ci siamo proposti di identificare tale fattore ipocolesterolemizzante esistente nel cervello e nella cistifellea ed ottenerlo in quantità tali da poterne studiare l'azione *in vivo* ed *in vitro*.

#### PARTE SPERIMENTALE.

L'attività delle frazioni veniva saggiata *in vivo* con il test al Triton WR 1339 (17-18) e sul siero dei ratti trattati si eseguivano i dosaggi del colesterolo (19-20), *in vitro* in terreno semi-sintetico a pH 7 contenente asparagina 3 %,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2,5 %,  $\text{MgSO}_4$  0,3 %, NaCl 6 %,  $\text{CaCl}_2$  1 cc (soluz. 500 mg/cc) secondo la metodica di Arnaudi-Carini (loc. cit.).

L'estratto idro-alcolico (1/75) di cistifellee dava *in vivo* alla dose di 2 gr/Kg endoperitoneo un abbassamento del colesterolo ematico del 30 % nei ratti trattati rispetto ai ratti controlli iniettati con solo Triton ( $F < 0,01$ ) secondo l'analisi della varianza [21].

L'estratto idro-alcolico (1/100) di cervello dava *in vivo* alla dose di 2 gr/Kg per via endoperitoneo un abbassamento del colesterolo ematico irrilevante o nullo ( $F > 0,05$ ).

*In vitro* estratti alcoolici dei due organi, preparati secondo la metodica di Rosenheim e Webster (loc. cit.), davano, a parità di condizioni, un'attività del cervello maggiore di quella della cistifellea sulla riduzione del colesterolo a coprosterolo per mezzo dei batteri intestinali (microflora intestinale totale).

Era quindi indubbio che esiste nella cistifellea una sostanza regolatrice del tasso di colesterolo ematico: il problema era se tale sostanza fosse identificabile con ciò che esiste nel cervello e se il diverso comportamento *in vitro* fosse dovuto a condizioni colturali non ottimali o a presenza negli estratti di altri fattori inibenti o favorenti la riduzione del colesterolo a coprosterolo.

Prima di tutto ci siamo proposti di cercare di isolare tale fattore dalla mucosa della cistifellea.

Dopo numerosi e svariati tentativi si è arrivati alla messa a punto di un metodo che porta all'isolamento di una sostanza, che, pur non dimostrando *in vitro* (almeno nelle nostre condizioni sperimentali) attività sull'incremento della trasformazione batterica del colesterolo in coprosterolo, presenta proprietà di notevole interesse in quanto esplica nel test al Triton una cospicua attività ipocolesterolemizzante.

Riportiamo un saggio dei protocolli, che verranno ulteriormente pubblicati, riguardanti esperienze su oltre 2.000 animali:

TABELLA I.

Numero ratti	Trattamento triton mg/Kg endovena	Sostanza mg/Kg endomuscolo	Colesterolo nel siero mg/100 cc + $s_m$
8	—	—	147 ± 4
8	200	—	350 ± 8
8	200	20	225 ± 7 (*)

TABELLA II.

Numero ratti	Trattamento triton mg/Kg endovena	Sostanza mg/Kg endomuscolo	Colesterolo nel siero mg/100 cc + $s_m$
5	—	—	135 ± 6
5	200	—	346 ± 2
5	200	10	269 ± 15 (*)

(\*) F. < 0,01.

Dalle Tabelle risulta che l'attività della sostanza a 20 mg/Kg è del 36 %, tale attività si riduce al 24 % alla dose di 10 mg/Kg.

I dosaggi di colesterolo riportati sono stati eseguiti secondo il metodo di H. Zlaktis ed altri; le stesse percentuali di abbassamento del colesterolo ematico si ritrovano comunque eseguendo i dosaggi con il metodo di A. Grigaut.

Tale sostanza è solubile negli acidi minerali diluiti, precipitabile con  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , precipitabile con  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , precipitabile con  $\text{Pb}_2\text{Ac}_3(\text{OH})$ , termolabile, indializzabile.

Diamo il valore medio della resa: da gr 70 di epitelio liofilizzato pari a gr 200 di epitelio fresco (circa 100 cistifellee) si ottengono circa mg 300 di sostanza attiva.

La sua attività *in vivo* dà, da partita a partita, alla dose di 20 mg/Kg di animale sperimentato abbassamento del colesterolo ematico che varia dal 27 % al 44 % nei ratti trattati rispetto ai ratti controlli iniettati con solo Triton WR 1339.

L'azione ipocolesterolemizzante si riscontra sia che la sostanza venga iniettata per via endoperitoneo sia che venga somministrata per via endomuscolo ed è più evidente 22 ore dopo il trattamento che non 19 ore dopo il trattamento.

Sono in corso esperienze con ratti sottoposti a trattamento cronico tendenti ad individuare la quantità di colesterolo, coprosterolo, acidi biliari escreti con le feci rispetto all'escrezione di ratti normali; contemporaneamente proseguono le ricerche per ottenere una maggiore caratterizzazione del principio attivo (1).

#### CONCLUSIONI.

È stata isolata dalla cistifellea suina una sostanza che agisce sul tasso di colesterolo ematico.

Essa non può essere identificata, al lume delle odierne conoscenze sulle sue caratteristiche, con la proteina con potere di attivatore lipolitico di S. Serio ed altri [22].

Se tale sostanza, poi, possa essere identificabile con il principio riscontrato nel cervello e che ha azione ipocolesterolemizzante *in vivo* è subjudice, ma i dati riportati recentemente da O. J. Jones ed altri [23] ci inducono a pensare che non vi sia alcuna relazione di costituzione chimica e di meccanismo d'azione fra le due sostanze.

#### BIBLIOGRAFIA.

- [1] O. ROSENHEIM, « Biochem. Journal », 8, 110 (1914).
- [2] O. ROSENHEIM, T. A. WEBSTER, « Biochem. Journal », 35, 920 (1941).
- [3] H. DAM, « Biochem. Journal », 28, 815 (1934).
- [4] H. DAM, « Biochem. Journal », 28, 820 (1934).
- [5] R. S. ROSENFELD, D. K. FUKUSHIMA, L. HELLMAN, T. F. GALLAGHER, « J. Biol. Chem. », 211, 301 (1954).
- [6] A. SNOG-KJAER, I. PRANGE, H. DAM, « J. General Microbiology », 14, 256 (1956).
- [7] R. J. JONES, S. C. KRAFT, S. HUFFMANN, E. L. BALTER, R. B. GOROBEN, « Circulation Research », 1, 530 (1953).
- [8] R. J. JONES, O. K. REISS, E. L. BALTER, L. LOHEN, « Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. », 96, 441 (1957).
- [9] B. O. PRIBAM, « Muncher Med. Woch. », 46, 1823 (1935).
- [10] C. H. DE BRAJ, « Le Concours Med. », 3953 (1952).
- [11] U. BUTTURINI, « La Clin. Terap. », 8, 485 (1955).
- [12] S. SERRANO, G. JAPICHINO, *ibidem*, 383, 13 (1957).
- [13] W. RIED, H. J. SCHMIDT, « Arzneim. Forsch. », 539 (1956).
- [14] M. C. COCUCCI RIZZI, « Boll. Soc. Biol. Sperim. », 34, 810 (1958).
- [15] E. MONTANI, E. SALA, « Minerva Medica », 50, 357 (1959).
- [16] C. ARNAUDI, S. CARINI, « La ricerca Scientifica », Anno 29°, 2112, 1959.
- [17] M. FRIEDMANN, S. BJERS, « J. Exp. Med. », 97, 117 (1953).
- [18] J. D. FRANTZ, B. HIENKELMANN, « *ibidem* », 101, 225 (1953).
- [19] A. GRIGAUT, « C. rend. Soc. Biol. », 68, 791 (1910).
- [20] H. BROWN, H. ZLATKIS, B. ZAK, A. BOJLE, « Analyt. Chem. », 26, 397 (1954).
- [21] L. LISON, *Statistica applicata alla Biologia Sperimentale*, CEA Milano (1961).
- [22] S. SERIO, L. PANDOLFO, P. BUZZANCA, « Gazz. Med. Sicil. », 119 (1958).
- [23] R. J. JONES, O. K. REISS, M. F. GOLDEN, *Drugs affecting lipid metabolism*, Elsevier Publish. Company, New York (1961).

(1) Desidero ringraziare l'aiutante di laboratorio del C.N.R. Bruno Filippo per la premurosa ed attiva opera da lui prestata.